使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要なときに読めるように保管しておいてください。

ＡＡＣ０３Ｔ　　※2006年10月改訂（第２版）
体外診断用医薬品　　2006年 4月改訂（新様式第１版）
承認番号：21500AMY00012000

マイコバクテリウム核酸キット
ＤＮＡプローブ「ＦＲ」－ＭＴＤ®
結核菌群直接検出用

（増幅／検出試薬）

■全般的な注意

1．本キットは、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2．添付文書に記載されている操作法を守ってください。この操作法以外の方法による検出結果の信頼性は保証いたしかねます。
3．検体にはヒト由来成分を含む試料を用いますので、感染の恐れがあるものとして取扱い、測定操作には使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、必要に応じて安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。
4．試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。
5．人体への投与はできません。
6．増幅およびハイブリダイゼーション操作に自動機器をご使用の場合は、当社指定の自動機器をご使用ください。他の自動機器をご使用になった場合は測定結果の信頼性を保証いたしかねます。なお、これらの自動機器の使用方法については、同機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
7．本キットでは当社指定の化学発光測定装置を使用します。他の測定装置をご使用になった場合は測定結果の信頼性を保証いたしかねます。なお、これらの測定装置の使用法については、同装置の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
8．測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断してください。

■形状・構造等（キットの構成）

増幅／検出試薬

	構成試薬名	容量	５０回分	３００回分
1	プローブ試薬（H）（凍結乾燥品） 〔1回測定分中：アクリジニウムエステル標識結核菌群DNAプローブ 1.2ｎｇ〕	６ｍＬ相当	１瓶	６瓶
2	ハイブリ用緩衝液（HB）	６ｍＬ	１瓶	６瓶
3	溶菌チューブ（LT）	２５本	２包	１２包
4	検体希釈液（SDB）	２.５ｍＬ	１瓶	６瓶
5	オイル（O）	１０ｍＬ	１瓶	６瓶
6	増幅試薬（A）（凍結乾燥品）	３ｍＬ相当	１瓶	６瓶
7	増幅試薬溶解液（AB）	３ｍＬ	１瓶	６瓶
8	増幅酵素（E）（凍結乾燥品） 〔1回測定分中：逆転写酵素（MMLV）２５０Ｕ Ｔ７ ＲＮＡポリメラーゼ１６７Ｕ〕	１.５ｍＬ相当	１瓶	６瓶
9	酵素溶解液（EDB）	１.５ｍＬ	１瓶	６瓶
10	加水分解液（S）	１５ｍＬ	１瓶	６瓶

［付属品］
シーリングカード（５０回分；１包、３００回分；６包）

本キットは、別売の増幅コントロールと合わせてご使用ください。

増幅コントロール

	構成試薬名	容量	
11	増幅陽性コントロール液（CONTROL＋）	１ｍＬ	１瓶
12	増幅陰性コントロール液（CONTROL－）	１ｍＬ	１瓶

■使用目的

ヒト体液、組織及び気管支洗浄液由来材料中の結核菌群の検出

■測定原理

本キットは、結核菌群のリボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）を標的とし、核酸増幅法を用いて特異的にＲＮＡを増幅し、さらに増幅産物に特異的なプローブを用いて検出を行う試薬です。

１．核酸増幅（TMA:Transcription Mediated Amplification[1,2]）
本キットは、ＲＮＡを標的として、プライマー、酵素（逆転写酵素、ＲＮＡポリメラーゼ）および基質の存在下、途中合成される二本鎖ＤＮＡを介してＲＮＡを増幅するものです。すなわち、Ｔ７プライマーが標的ＲＮＡへハイブリダイゼーションし、逆転写酵素（ＲＴ）により相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）を合成、ＲＴのＲＮａｓｅ Ｈ活性により標的ＲＮＡを分解、続いてプライマーがｃＤＮＡへハイブリダイゼーションし、ＲＴによりプロモーター配列を持つ鋳型二本鎖ＤＮＡが合成されます。この鋳型二本鎖ＤＮＡをもとにＲＮＡポリメラーゼ（ＲＮＡ Ｐｏｌ）の転写反応によりＲＮＡが合成されます。また、増幅産物（ＲＮＡ）は、上記と同様な行程により鋳型二本鎖ＤＮＡとなり、ＲＮＡが合成されます（図１）。

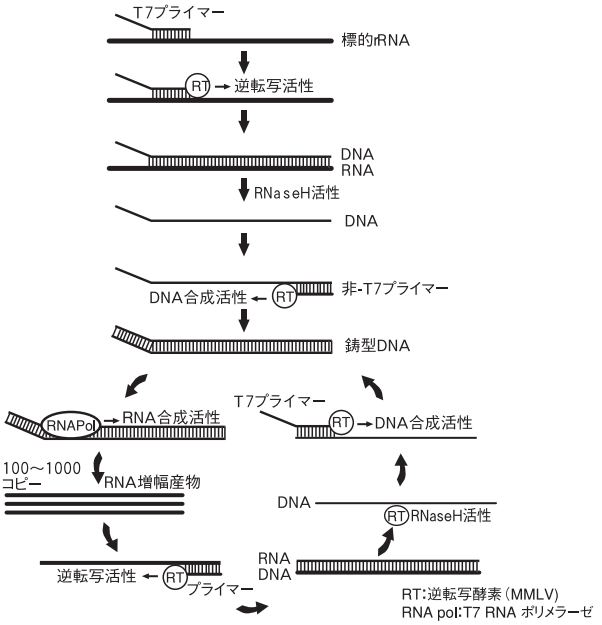

図１．ＴＭＡ増幅原理

２．ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA:Hybridization Protection Assay[3]）
増幅したＲＮＡ鎖に相補的なアクリジニウムエステル標識一本鎖ＤＮＡプローブを用いて、増幅産物（ＲＮＡ）を検出します。すなわち、増幅終了後の検体とプローブをハイブリダイゼーションさせ、二本鎖のＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドを形成させます。その後、加水分解を行い、ハイブリッドを形成しなかった未反応のプローブのアクリジニウムエステルを失活させます。一方、ハイブリッドを形成したプローブのアクリジニウムエステルは保護されているため加水分解を受けず、化学発光性を保持しています(図２)。この化学発光の強さ（発光強度）を測定することで、増幅したＲＮＡを検出することができます。

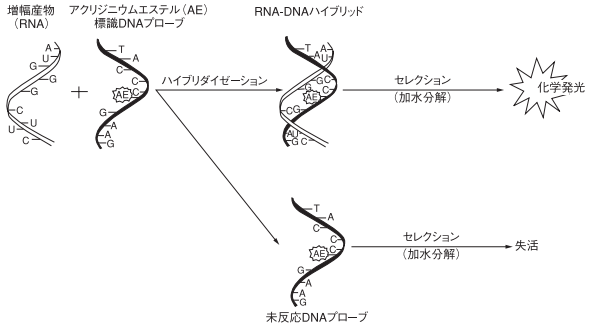

図２．ＨＰＡ測定原理

■操作上の注意

１．測定試料の性質、採取法

１） 喀痰は粘度が高いので、細菌類の分布に偏りがある場合があります。偏りが存在したままで検体を採取しますと正しい結果が得られないことがありますので、適宜検体量を変えそれに見合った試薬量を使用して検体前処理を実施してください。

２） 著しく血液が混入した検体は、正しい結果が得られないことがあります。著しく血液が混入した検体の使用は控えてください。患者さんから採取した検体に血餅が含まれる場合は、血餅が入らないように特に気をつけて検体を採取し、前処理を行ってください。

３）検体前処理は一般的なＮＡＬＣ－ＮａＯＨ処理ですが、ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液が残っていますと前処理済み検体のｐＨが高くなり、測定結果に影響します。リン酸緩衝液への溶液の置換は確実に行ってください。

２．妨害物質、妨害薬剤

１） 検体中の共存物質が測定値におよぼす影響は検討されておりませんので不明です。

２）薬物の投与に関しての影響は検討されておりませんので不明です。

３．交差反応性

本キットでは、*M. tuberculosis*、*M. bovis*、*M. bovis* BCG、*M. africanum* および *M. microti* をそれぞれ分離同定することはできません。また、耐性菌を判別するものではありません。

４．操作上の留意事項

１）用手法

増幅およびハイブリダイゼーションは温度・時間の影響を受けます。温度・時間管理を厳重に行ってください。

２）自動機器法

各試薬は試薬量が十分残っていることを確認してから自動機器にセットしてください。

３）用手法、自動機器法共通

（１）感染およびコンタミネーションを避けるため、臨床検体の前処理、検体分取および溶菌操作は安全キャビネット内で行ってください。なお、検体を安全キャビネット外に出す際には、感染防止のための処置（加熱処理など）を行うことをおすすめします。

（２）調製した増幅液は２～８℃で保存し、１ヵ月間以内にご使用ください。なお、２～８℃で保存した増幅液に沈殿が析出している場合は、４２℃に温めて軽く撹拌し、溶解してからご使用ください。

（３）調製した増幅酵素液は２～８℃で保存し、１ヵ月間以内にご使用ください。なお、常温では８時間以内にご使用ください。

（４）プローブ液を調製する際には、ハイブリ用緩衝液を常温に戻し沈殿が析出していないことを確認して調製してください。沈殿が析出している場合には６０℃の水浴で温め溶解し、均一になるようミキサーで撹拌してください（ミキサーは１分間以上かけないでください）。溶解したプローブ液は２～８℃で保存し、３週間以内にご使用ください。なお、２～８℃で保存したプローブ液は６０℃の水浴で温め、均一であることをご確認の上ご使用ください。

（５）発光強度の測定にはリーダーⅠやリーダー５０／５０ｉなどの化学発光測定装置または当社指定の自動機器を用い、専用のリーダー用試薬をご使用ください。なお、機器およびリーダー用試薬の使用に際してはこれらに添付の取扱説明書などをご覧ください。

５．その他

１）使用する器具は清浄なものを使用し、特に検体やコントロールの分注にはコンタミネーションを避けるためフィルター付チップを使用してください。使用したフィルター付チップはただちに廃棄し、再利用はしないでください。

２）シーリングカードおよび試験管用キャップは常に新しいものを使用してください。使用したシーリングカードおよびキャップはただちに廃棄してください。

３）コンタミネーションの原因となる増幅産物の除去には次亜塩素酸ナトリウム液が有効です。使用する器具やキャビネット内は有効塩素濃度２．５％の次亜塩素酸ナトリウム液で拭き、増幅産物を除去してください。

４）超音波洗浄器、水浴の水は毎回取りかえてください。また、水を取りかえる際には、有効塩素濃度２．５％の次亜塩素酸ナトリウム液で機器本体を拭いてください。

５）コンタミネーションを避けるため、検体の前処理、増幅操作および検出操作はそれぞれ検体前処理室、増幅操作室および検出室で行ってください。また、白衣や履物またピペットなどの器具類も部屋専用のものを使用してください。

６）測定に必要な試薬類・器具・機器の使用の際にはこれらに添付の取扱説明書などをご覧ください。

■用法・用量（操作方法）

１．試薬の調製法

（試薬の調製法は用手法、自動機器法ともに共通です。）

１）増幅液の調製

増幅試薬（A）１瓶に増幅試薬溶解液（AB）３ｍＬを加え、均一になるようミキサーで撹拌した後、透明になるまで常温に放置し増幅液とします。

２）増幅酵素液の調製

増幅酵素（E）１瓶に酵素溶解液（EDB）１．５ｍＬを加え軽く撹拌して溶解し、増幅酵素液とします。溶解の際、ミキサーは使用しないでください。

３）プローブ液の調製

プローブ試薬（H）１瓶にハイブリ用緩衝液（HB）６ｍＬを加え溶解しプローブ液とします。

４）その他の構成試薬は、常温に戻した後そのまま使用してください。

２．必要な器具・器材

器具・器材など	規格など	用手法	自動機器法
増幅コントロール	別売品	○	○
ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液	2% NaOH、1.45% Na-citrate、0.5% N-acetyl-L-cysteine	○	○
リン酸緩衝液	０．０６７ｍｏｌ／Ｌ、ｐＨ６．８	○	○
キャップ付プラスチック遠心管	容量１５ｍＬ	○	○
ミキサー	用手法；ハイブリダイゼーションではラックミキサーの使用可	○	○
超音波洗浄器	ブランソン社製 型式１５１０Ｊ［４２ｋＨｚ、９０Ｗ］または同等の性能を有するもの	○	○
ポリプロピレン製試験管	１２×７５mm(MTDチューブ:別売品など)	○	○
マイクロピペット	２５μＬ、２００μＬ、1mL分注用	○	○
フィルター付チップ	２５μＬ、２００μＬ、1mL分注用	○	○
使い捨て手袋	パウダーフリー	○	○
化学発光測定装置	リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど	○	注）
リーダー用試薬（リーダー用試薬Ⅰ、リーダー用試薬Ⅱ）	別売品	○	○
安全キャビネット		○	○
ポリプロピレン製試験管用キャップ	ハイブリダイゼーションでラックミキサーを使用の場合は不要	○	－
ヒートブロック	径１２mm、９５℃ｘ１台	○	－
水浴	４２℃ｘ１台、６０℃ｘ１台	○	－
連続分注器／チップ	２０μＬ、２５μＬ、５０μＬ、１００μＬ、２００μＬ、３００μＬ分注用	○	－
自動機器	Ｄｓ－５０TMA自動機およびＤｓ－５０HPA自動機、その他当社指定の自動機器：別売品	－	○

注）Ｄｓ－５０TMA自動機およびＤｓ－５０HPA自動機では必要、その他当社指定の自動機器では不要

３．測定法

１）用手法での測定の場合

（１）検体前処理[1、4-7]（**検体の前処理法は用手法、自動機器法ともに共通です。検体前処理は安全キャビネット内で操作してください。**）

① 検体約１ｍＬをキャップ付プラスチック遠心管（容量１５ｍＬ）に採取し、ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液を検体量の等量～２倍量加えます。なお、ヒト組織の場合はホモジナイズした後、同様に処理してください。

② キャップを締め、ミキサーで検体が可溶化するまで（約２０秒間）混和します。一連の検体についてこの操作を終了した後、もう一度約１０秒間同様に混和します。

③ １５分間、常温に放置します。

④ キャップを開け０．０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６．８）を加え、全量約１０ｍＬとします。

⑤ キャップを締め、遠心管を転倒混和します。

⑥ ３，０００×ｇで１５分間遠心分離した後、デカントし上清を除きます。

（注意）遠心条件を守り、沈殿を捨てないように適切に行ってください。

⑦ ０．０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６．８）約１ｍＬを加え、ミキサーで撹拌し、沈殿を懸濁させます。この懸濁液を前処理済み検体とします。

（注意）ｐＨ試験紙などでｐＨを確認し、中性でない場合は４％塩酸で中和し、前処理済み検体とします。

（２）溶菌

① 溶菌チューブ（LT）のキャップを開け検体希釈液（SDB）２０μＬを連続分注器で分注します。

② 前処理済み検体２００μＬを加え、溶菌チューブにキャップをし、ミキサーで３秒間撹拌します。

③ 溶菌チューブのキャップが水面より上に出るように超音波洗浄器にセットし、１５分間超音波処理を行い、溶菌済み検体とします。

（注意）超音波処理は２０分を超えないように注意してください。超音波洗浄器内の水を脱気するため、あらかじめ15分間超音波処理をしておきます。また、溶菌チューブが超音波洗浄器の底部や側面に接触しないように注意してください。なお、③および脱気処理は常温で行います。

（３）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）

（９５℃、１５分インキュベートが終了するまで、安全キャビネット内で操作して下さい。）

① ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅液５０μＬを連続分注器で分注します。

② オイル（O）２００μＬを各試験管に連続分注器で分注します。

③ 増幅陰性コントロール液（CONTROL－）、増幅陽性コントロール液（CONTROL＋）または溶菌済み検体２５μＬを試験管に分取します。

（注意）試験管の底部に分取するようにしてください。

④ 各試験管を９５±５℃のヒートブロックに移してシーリングカードでカバーし、１５分間インキュベートします。

（注意）２０分間を超えないように注意してください。

⑤ シーリングカードをとり、各試験管を４２±１℃の水浴に移し、再度新しいシーリングカードでカバーし５分間インキュベートします。

（注意）④から⑤への操作は速やかに行い試験管の温度が４２℃以下にならないように注意してください。

⑥ シーリングカードをとり、各試験管に増幅酵素液２５μＬを連続分注器で分注し、振とう混和します。

⑦ 各試験管を４２±１℃の水浴に移し、シーリングカードでカバーし、３０分間インキュベートします。

（注意１）２時間を超えないように注意してください。

（注意２）増幅酵素は４４℃で失活します。温度管理を厳重に行ってください。

（注意３）３０分間インキュベート後の試験管は２～８℃で２時間、－２０℃で１週間保存可能です。２～８℃で保存した場合は完全に常温に戻してから（4）へ進みます。なお、－２０℃で保存した場合、６０±１℃の水浴で融解してから（4）へ進みます。

（４）ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA：Hybridization Protection Assay）

① 増幅が終了した〔（３）－⑦〕各試験管にプローブ液１００μＬを連続分注器で分注します。ミキサーを使用する場合は各試験管にキャップをし、ラックミキサーを使用する場合はシーリングカードでカバーし、液色が黄色になるようミキサーで３秒間３回混和します。

② 各試験管を６０±１℃の水浴で、１５分間インキュベートします。

（注意）２０分間を超えないように注意してください。

③ キャップあるいはシーリングカードをとり、加水分解液（S）３００μＬを連続分注器で分注します。ミキサーを使用する場合は各試験管にキャップをし、ラックミキサーを使用する場合はシーリングカードでカバーし、液色がピンク色になるようミキサーで３秒間３回混和します。

④ 試験管を６０±１℃の水浴で、１５分間インキュベートします。

（注意）１６分間を超えないように注意してください。

⑤ 各試験管を常温で１０分間冷却後、キャップあるいはシーリングカードをとります。

⑥ 化学発光測定装置（リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど）で２時間以内に発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定します。測定前に湿らせたティッシュペーパーまたはペーパータオルで試験管の外側を拭きます。なお、化学発光測定装置につきましては、装置の取扱説明書をご覧ください。

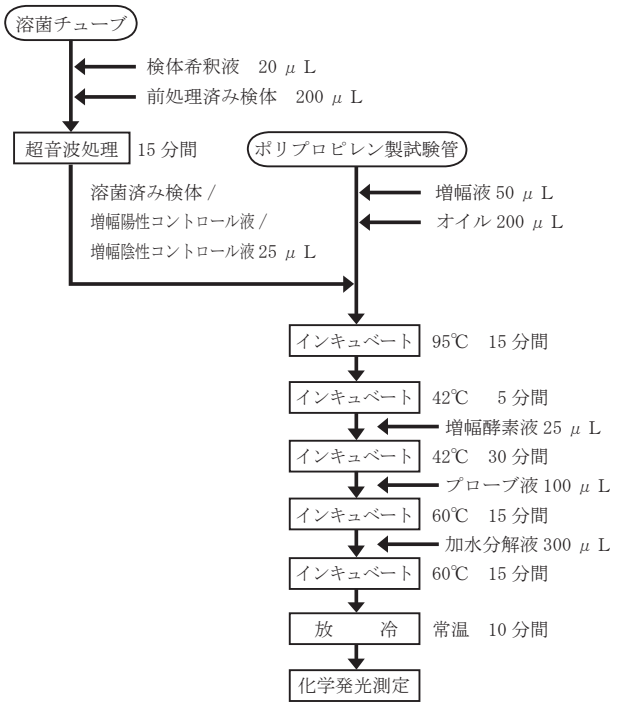

図３．用手法での測定操作法概略図

２）自動機器での測定の場合

（１）検体前処理[1、4-7]（**検体の前処理法は用手法、自動機器法ともに共通ですので、本添付文書の“３．測定法 １）用手法での測定の場合”に記載した“（１）検体前処理”に従い、安全キャビネット内で操作してください。**）

（２）溶菌（**溶菌操作が終了するまで、安全キャビネット内で操作してください。**）

① 溶菌チューブ（LT）のキャップを開け、検体希釈液２０μＬを連続分注器で分注します。

② 前処理済み検体２００μＬを加え、溶菌チューブにキャップをし、ミキサーで３秒間攪拌します。

③ 超音波洗浄器内の水温を９５±５℃に調整し、溶菌チューブのキャップが水面より上に出るように超音波洗浄器にセットし、１５分間超音波処理を行い、溶菌済み検体とします。この際、２０分間を超えないよう注意してください。

（注意）感染防止のため、溶菌操作での超音波処理は９５±５℃で行ってください。超音波洗浄器内の水はあらかじめ１５分間超音波処理をして脱気してから９５±５℃にインキュベートするか、５分間以上沸騰させて脱気した後、９５±５℃に調整して使用してください。溶菌チューブが超音波洗浄器の底部や側面に接触しないように注意してください。

Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機、Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機

（３）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）

自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）に増幅液、オイル（0）および増幅酵素液をセットします。

① ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅陰性コントロール液（CONTROL －）、増幅陽性コントロール液（CONTROL ＋）または溶菌済み検体の各々２５μＬを試験管の底部に分取します。

② 自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）に増幅陰性コントロール液（CONTROL －）、増幅陽性コントロール液（CONTROL ＋）および溶菌済み検体を分取した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。

自動機器により以下の操作が実施されます。

③ 増幅液５０μＬの各試験管への分注。

④ オイル（0）２００μＬの各試験管への分注、混和。

⑤ 各試験管がヒートブロックに移動し、９５±５℃で１５分間インキュベート。

⑥ 各試験管がヒートブロックに移動し、４２±１℃で５分間インキュベート。

⑦ 増幅酵素液２５μＬの各試験管への分注、混和。

⑧ 各試験管がヒートブロックに移動し、４２±１℃で３０分間インキュベート。

（注意）増幅終了後の試験管は２～８℃で２時間、－２０℃で１週間保存可能です。２～８℃で保存した場合は完全に常温に戻してから（４）へ進みます。なお、－２０℃で保存した場合、６０±１℃の水浴で融解してから（４）へ進みます。

（４）ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA：Hybridization Protection Assay）

自動機器（Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機）につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。自動機器（Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機）にプローブ液、加水分解液（S）および増幅操作が終了した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。

自動機器により以下の操作が実施されます。

① 増幅が終了した各試験管へのプローブ液１００μＬの分注、混和。

② 各試験管がヒートブロックに移動し、６０±１℃で１５分間インキュベート。

③ 加水分解液（S）３００μＬの各試験管への分注、混和。

④ 各試験管がヒートブロックに移動し、６０±１℃で１５分間インキュベート。以下の操作は用手法での操作と同様です。

⑤ 各試験管を常温で、１０分間冷却後、自動機器のラックカセットからはずします。

⑥ 化学発光測定装置（リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど）で２時間以内に発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定します。測定前に湿らせたティッシュペーパーまたはペーパータオルで試験管の外側を拭きます。なお、化学発光測定装置につきましては、装置の取扱説明書をご覧ください。

その他当社指定の自動機器

（５）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）、ハイブリダイゼーションおよび検出（ＨＰＡ：Hybridization Protection Assay）

自動機器につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。自動機器に増幅液、オイル（0）、増幅酵素液、プローブ液、加水分解液（S）、リーダー用試薬（リーダー用試薬Ⅰ、リーダー用試薬Ⅱ）をセットします。

① ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅陰性コントロール液（CONTROL －）、増幅陽性コントロール液（CONTROL ＋）または溶菌済み検体の各々２５μＬを試験管の底部に分取します。

② 自動機器に増幅陰性コントロール液（CONTROL －）、増幅陽性コントロール液（CONTROL ＋）および溶菌済み検体を分取した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。

自動機器により以下の操作が実施されます。

③ 増幅液５０μＬの各試験管への分注。

④ オイル（0）２００μＬの各試験管への分注、混和。

⑤ 各試験管がヒートブロックに移動し、９５±５℃で１５分間インキュベート。

⑥ 各試験管がヒートブロックに移動し、４２±１℃で５分間インキュベート。
⑦ 増幅酵素液２５μＬの各試験管への分注、混和。
⑧ 各試験管がヒートブロックに移動し、４２±１℃で３０分間インキュベート。
⑨ 増幅が終了した各試験管へのプローブ液１００μＬの分注、混和。
⑩ 各試験管がヒートブロックに移動し、６０±１℃で１５分間インキュベート。
⑪ 加水分解液（S）３００μＬの各試験管への分注、混和。
⑫ 各試験管がヒートブロックに移動し、６０±１℃で１５分間インキュベート。
⑬ 各試験管を常温で１０分間冷却後、発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定。

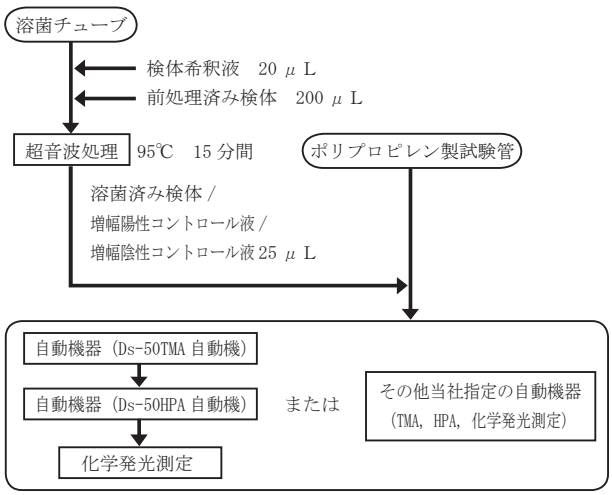

図 4. 自動機器法での測定操作法概略図

■測定結果の判定法

１．判定

陰性：発光強度が３０，０００ＲＬＵ未満を示す検体は陰性と判定します。
陽性：発光強度が３０，０００ＲＬＵ以上を示す検体は陽性と判定します。

２．判定上の注意

１）測定結果は同時に測定した増幅陽性コントロール液および増幅陰性コントロール液の結果が以下の範囲にあるとき判定可能です。
増幅陽性コントロール液：５００，０００ＲＬＵ以上
増幅陰性コントロール液：９，０００ＲＬＵ以下
なお、測定結果が上記の範囲を外れた場合は判定できませんので、再度測定を行ってください。
２）感染があっても感染の時期、検体採取部位、検体採取方法などによっては検査結果が陰性の場合があります。測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断して行ってください。

■臨床的意義

本邦における結核患者数および結核死亡率は、戦後顕著な減少が続いたものの、いまだ新規患者数は年間４万人弱を数えます。
また、人口１０万人当たりの患者数を示す罹患率は先進諸国の多くで８程度なのに対し、日本は３１.０（２０００年）となっています[8]。
結核の診断・治療に重要な結核菌群の検出および同定は、小川培地やLoewenstein-Jensen 培地に代表される卵培地が使用されていますが、その分離培養・同定には４～８週間を要しており、迅速な結核菌群の検出・同定法の開発が望まれています[9]。
本キットは米国Ｇｅｎ－Ｐｒｏｂｅ社で開発された新しい核酸増幅法を応用することにより、喀痰などの臨床検体を分離培養することなく、直接結核菌群のリボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）を増幅し、この増幅産物をＤＮＡプローブにより検出するものです。
この方法により、本キットは約２時間で臨床検体中の結核菌群を検出・同定することが可能となり、結核の早期診断・治療が可能となります[1-7]。

■性能

１．性能

１）感度
（１）増幅陰性コントロール液を試料として測定するとき、その測定値は９，０００ＲＬＵ以下を示します。
（２）増幅陽性コントロール液を増幅陰性コントロール液で１００倍に希釈した液を試料として測定するとき、その測定値は１５０，０００ＲＬＵ以上を示します。
２）正確性
試験用コントロール液[注)]を試料として３回繰り返し測定するとき、測定値の平均値は２０，０００～６０，０００ＲＬＵの範囲にあります。
３）同時再現性（併行精度）
試験用コントロール液[注)]を試料として３回繰り返し測定するとき、測定値の変動係数（ＣＶ％）は１５％以下を示します。
４）最小検出感度
１.２ＣＦＵ／ａｓｓａｙ

注）試験用コントロール液：合成ＤＮＡから調製された濃度既知のコントロール液

２．相関性試験成績[1,2]

小川培地を用いた抗酸菌培養およびアキュプローブ結核菌群同定を併用した結果と、本キットによる測定結果を下表に示します。

結核菌培養と本キットの一致率

		培養＋アキュプローブ結核菌群同定		
		陽　性	陰　性	計
本キット	陽　性	47	24	71
	陰　性	1	166	167
	計	48	190	238

感　度　0.979
特異度　0.874
一致率　0.895

■使用上または取扱い上の注意

１．取扱い上（危険防止）の注意

１）検体には、ヒト体液、組織および気管支洗浄液由来材料を用いますので、ＨＩＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶおよび結核菌や非結核性抗酸菌などの感染の恐れがあるものとして取扱ってください。特に検体前処理および溶菌では感染の危険性があります。使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。
２）検体および試薬を分注する際にピペットは口で吸わないでください。また、検体および試薬を取扱う際には使い捨て手袋、防護メガネ、白衣などを着用してください。
３）試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

２．使用上の注意

１）本キットは、必ず２～８℃で保存し、凍結はしないでください。
２）調製済みの増幅酵素液以外は、常温に戻してから使用してください。
３）使用期限（外箱に記載）が過ぎたキットは使用しないでください。
４）増幅／検出試薬は、異なる製造番号（外箱に記載）の構成試薬を組合せて使用したり、残った試薬を混合して使用しないでください。

３．廃棄上の注意

１）検体の残り、検体が含まれている反応液、検体が付着しているピペットチップなどは、１２１℃、２０分間のオートクレーブによる滅菌または２.５％次亜塩素酸ナトリウム液による処理など、廃棄物の処理および清掃に関する法律に基づく感染性廃棄物処理マニュアルに従って処理した後廃棄してください。
２）試薬を廃棄する場合は、多量の水で流してください。
３）本キットでは核酸増幅を行います。増幅産物が多量に合成されますので操作後は増幅産物による検査室の汚染を防ぐための処理が必要です。発光強度測定終了後の反応液を含む試験管に、有効塩素濃度２.５％の次亜塩素酸ナトリウム液を満たし、１５分間以上処理してから廃棄してください。また、反応液に触れた試験管などの器具類も同様に有効塩素濃度２.５％次亜塩素酸ナトリウム液に１５分間以上浸した後廃棄してください。
４）プラスチックおよびガラスの試薬容器は廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

１．貯蔵方法　；　２～８℃

※２．有効期間　；　１年

■包装単位

１キット　５０回分
１キット　３００回分

別売　増幅コントロール
増幅陽性コントロール液：１ｍＬ×１瓶
増幅陰性コントロール液：１ｍＬ×１瓶

■主要文献

1．C. Abe et al：Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Specimens by Polymerase Chain Reaction and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. J. Clin. Microbiol. 31：3270-3274, 1993.
2．柳昭雄ら：核酸（rRNA）増幅を応用した結核菌直接検出法（Gen-Probe；MTD）の臨床的検討
— 小川培地と液体培地（MB チェック）との比較を中心として —. 結核, 69：7-14, 1994.
3．岡田　淳：液相ハイブリダイゼーション（HPA 法、ACCUPROBE 法）による抗酸菌の迅速同定法. 日本臨床, 50：310-314, 1992.
4．豊田丈夫ら：結核菌群核酸増幅同定検査（MTD）により迅速診断が可能であった結核性髄膜炎の２例. 感染症学会誌, 69：945-949, 1995.
5．M. Osumi et al：Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Specimens Other than Sputum by a Specific DNA Probe with Amplification of the Ribosomal RNA.
感染症学会誌, 69：1376-1382, 1995.
6．S. Ehlers et al：Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis by Gen-Probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test. J. Clin. Microbiol, 34：2275-2279, 1996.
7．豊田丈夫ら：喀痰以外の臨床検体中の結核菌の MTD による検出
—検体前処理の基礎検討および臨床評価—. 結核, 71：495-503, 1996.
8．結核予防会：結核の統計 2000. 資料編 2001
9．日本結核病学会予防委員会：1990 年の結核対策および研究について
—新時代の結核対策—. 結核, 66：323-332, 1991.

■問い合せ先

富士レビオ株式会社　学術サービス部
東京都中央区日本橋浜町 2-62-5
TEL：03-5695-9210
FAX：03-5695-9234

製造販売元
富士レビオ株式会社
東京都中央区日本橋浜町 2-62-5

製造元
Gen-Probe Incorporated